

**УСТОЙЧИВОСТЬ ЦЕРКАРИЙ *DIPLOSTOMUM SPATHACEUM*,
RUD., 1819 К УЛЬТРАФИОЛЕТОВОМУ ИЗЛУЧЕНИЮ****М. И. Власенко**

Всесоюзный институт экспериментальной ветеринарии, Москва

Приведены результаты лабораторных опытов по выяснению чувствительности к УФ-облучению возбудителей диплостомоза рыб — церкарий *D. spathaceum* Rud., 1819. Установлены летальные и сублетальные дозы УФ-радиации. Рекомендовано использование УФ-излучения для профилактики диплостомоза молоди рыб на водоемах с низким коэффициентом поглощения.

Для подсчета церкарий *D. spathaceum* предложена счетная камера, которая может быть использована для подсчета других церкарий.

Установки с ультрафиолетовым излучением уже нашли применение в практике коммунальных хозяйств некоторых городов нашей страны для обеззараживания питьевой воды. Борьба с болезнями рыб путем использования ультрафиолетового излучения, имеющего ряд преимуществ по сравнению с другими методами и средствами, является весьма перспективной. Возможность использования УФ-излучения в ихтиопатологии, например в борьбе с бицусом икры, эмпирически доказана рядом отечественных исследователей (Садов и Коханская, 1961, 1963; Астахова, 1965; Коханская, 1967; Власенко, 1967; Астахова и Мартино, 1968).

Задача настоящей работы — изучить возможности использования УФ-излучения для профилактики диплостомоза молоди рыб путем обеззараживания воды, поступающей в инкубационные цеха рыбоводных предприятий, от возбудителей этого заболевания — церкарий *Diplostomum spathaceum*, Rud., 1819.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

В качестве источника УФ-радиации были использованы бактерицидные лампы типа БУВ-15, бактерицидный поток которых характеризуется в основном (80%) лучами длиной волны 2537 Å. Лампы в количестве 1—3 в изготовленном облучателе включали в сеть через стабилизатор. Интенсивность ультрафиолетового излучения (облученность) в каждом опыте измеряли ультрафиолетометром.

Облучение церкарий проводили при температуре 20—24° в изготовленной из органического стекла кювете размером 20×12.5×2.5 см. Количество облучаемой взвеси церкарий составляло 50 мл, толщина облучаемого слоя — 2 мм. Кювету с облучаемой взвесью церкарий располагали на расстоянии 50 см от лампы, под прямым углом к ее оси. В процессе облучения взвесь перемешивали покачиванием кюветы. Каждую порцию взвеси облучали до полного обеззараживающего эффекта, при этом после дозированного облучения брали пробы в количестве 2—3 мл для определения результата облучения.

В качестве продуцента церкарий *D. spathaceum* использовали моллюсков *Limnaea stagnalis*, которых для определения зараженности поштучно помещали в чашки Коха или широкогорлые плоскодонные колбы с неболь-

Т а б л и ц а 1
Облучение церкарий *D. spathaceum*

Дата опыта	Облученность <i>E</i> (в мквт см ²)	Исходное количество церкарий в 1 мл	Количество живых морфологически неизмененных церкарий в 1 мл взвеси после облучения УФ-дозой в мквт·сек./см ²							Количество живых церкарий к концу облучения в конт- роле (в 1 мл)
			65400	130800	196200	261600	327000	392400	457800	
12 VI 1967	109	10	10	5	3	2	0	—	—	10
18 VI 1968	77.3	10	10	9	6	2	0	—	—	10
	77.3	10	10	9	5	2	1	0	—	10
	77.3	10	9	8	5	2	0	—	—	10
	77.3	10	9	8	6	2	1	0	—	10
12 VII 1967	109	25	25	24	4	3	0	—	—	25
	102	26	25	22	13	2	1	0	—	26
	109	26	26	24	14	5	0	—	—	26
	109	55	55	43	31	14	5	0	—	55
13 VII 1967	109	40	40	38	21	16	6	2	0	40
	109	40	39	38	29	27	6	1	0	40

шим количеством воды комнатной температуры. Через несколько минут из зараженных моллюсков наблюдался массовый выход церкарий в воду. Таких моллюсков отсаживали в кристаллизатор с водопроводной или аэрированной дистиллированной водой для получения необходимой концентрации церкарий. Экспериментальным путем установлено, что сроки жизни церкарий в водопроводной и аэрированной дистиллированной воде практически одинаковы.

Для учета исходной концентрации и результатов облучения церкарий наиболее удобным приспособлением оказалась специально выполненная из тонкостенного (1 мм) органического стекла счетная камера размером $112 \times 90 \times 5$ мм, емкостью 50 мл. Подсчет церкарий в камере проводили при боковом освещении на темном фоне с помощью 8-кратной ручной лупы. Редкие и незначительные периодические перемещения церкарий по вертикали не помешали подсчету. Описанная счетная камера с успехом может быть использована для подсчета других церкарий, имеющих выраженную позу покоя.

Коэффициент сопротивляемости — один из показателей устойчивости церкарий к УФ-облучению и бактерицидный поток, необходимый для обеззараживания расчетного количества воды, т. е. данные, позволяющие произвести расчет материальных затрат на профилактику диплостомоза в условиях рыбоводного предприятия, определяли по формулам Соколова (Соколов, 1964).

СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

По определению устойчивости церкарий *D. spathaceum* к УФ-радиации поставлено 18 опытов, в которых проведено 112 облучений. Рабочая концентрация церкарий в опытах была от 10 до 100 экз. в 1 мл воды. Результаты опытов представлены в табл. 1 и 2. В связи с тем, что исходные концентрации церкарий в опытах резко различались, статистической обра-

Т а б л и ц а 2
Облучение церкарий *D. spathaceum* с исходной концентрацией 100 экз. в 1 мл воды

Дата опыта и статистические показатели	Облученность E (в мквт/см ²)	Количество живых морфологически неизмененных церкарий в 1 мл взвеси после облучения УФ-дозой (мквт·сек./см ²)							Количество живых церкарий к концу облучения в контроле (в 1 мл)
		65400	130800	196200	261600	327000	392400	457800	
24 VI 1968	84.6	92	77	63	44	23	2	0	100
	84.6	89	77	55	38	20	3	0	100
	84.6	89	78	58	45	28	4	0	100
25 VI 1968	82.6	90	79	57	54	35	3	0	100
18 VIII 1968	221.0	95	84	72	44	34	3	0	100
	221.0	94	77	63	50	22	4	0	100
	221.0	93	77	59	46	25	4	0	100
Сумма Σ		642	549	427	321	187	22	0	
Средняя арифметическая M		91.7	78.4	61	46	25.7	3.1	0	
Среднее квадратное отклонение σ		2.43	2.57	5.68	4.9	6.0	0.69	0	
Достоверность различия $I_{M_0-M_1}$		9.2	13.5	7.0	5.0	6.3	8.7	0	
Степень обеззараживания $\frac{P}{P_0}$		0.917	0.784	0.610	0.460	0.257	0.031	0	
Коэффициент сопротивляемости K		750000	523000	593000	332000	240000	113000	0	

ботке подвергнуты только результаты их облучения при концентрации 100 экз./мл. Обработка опытных данных указывает на статистическую достоверность полученных результатов.

Наблюдения показали, что под влиянием УФ-радиации фурки хвоста у церкарий скручиваются и иногда отпадают. Затем весь хвост отваливается, церкария теряет способность держаться в толще воды, опускается на дно сосуда и вскоре погибает. Из данных табл. 1 и 2 видно, что при концентрации церкарий 10 экз./мл DL_{50} составляет около 200 000, а DL_{100} — около 330 000 мквт \times сек./см². С увеличением концентрации церкарий эти дозы, естественно, возрастают: при концентрации 100 экз./мл DL_{50} составляет около 230 000, а DL_{100} — 450 000 мквт \times сек./см². Коэффициент сопротивляемости церкарий, рассчитанный по средним арифметическим результатам облучения одинаковыми УФ-дозами, колебался от 113 000 до 750 000 мквт \cdot сек./см².

Кроме опытов по установлению чувствительности церкарий к УФ-радиации, в лабораторных условиях была проведена серия опытов по заражению рыб церкариями, подвергнутыми УФ-облучению в сублетальных дозах. Указанные опыты проводили на сеголетках карпа, верховки и 12-иглой колюшки. В табл. 3 приведены результаты опытов с сеголетками верховки как объектами более чувствительными к заражению.

Из данных табл. 3 видно, что при исходной концентрации церкарий 100 экз./мл доза УФ-радиации, при которой церкарии теряют способность к заражению рыб, составляет около 300 000 мквт \times сек./см², что на $\frac{1}{3}$ ниже DL_{100} при той же концентрации церкарий.

Таблица 3

Заражение сеголетков верховки церкариями *D. sprathacum*, облученными УФ-лучами в сублетальных дозах

Результаты заражения													
Дата опыта	Доза облучения Е (в мквт·сек./см²)	Рабочая концентрация церкарий (экз./мл)	Задано церкарий на 1 рыбку	опыт				контроль					
				всего	погибло рыб	осталось живых		интенсивность заражения (в среднем)	всего рыб	погибло	осталось живых		
						всего	в том числе зараженных				всего	в том числе зараженных	
													интенсивность заражения (в среднем)
13 VII 1967	196000	120	{	10 10	0 0	10 10	3 2	2-2 (2) 1-1 (1)	10 10	8 4	2 6	2 6	10-12 (11) 2-12 (5.3)
21 VIII 1967	188000	75	75	10	0	10	0	0	10	0	10	10	9-23 (15.2)
	251000	75	75	10	0	10	0	0	10	0	10	10	
29 VIII 1967	275000	100	{	25	0	25	1	1 (1)	20	13	7	7	44-90 (67)
				25	0	25	3	1-2 (1.3)	25	9	16	16	40-77 (58)
1 IX 1967	277000	100	{	20	0	20	1	1	20	2	18	18	4-28 (12.3)
				20	0	20	0	0					

Гибель верховок в контроле происходила в первые четыре часа после заражения от острого церкариоза.

ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенными опытами подтверждена биологическая закономерность, заключающаяся в том, что результат облучения УФ-лучами не зависит от величины облученности, а зависит от дозы УФ-облучения, т. е. произведения облученности на время облучения (EI). Это особенно наглядно видно из опытов по облучению церкарий при концентрации 100 экз./мл (табл. 2).

Математическая обработка опытных данных указывает на статистическую достоверность полученного результата. Вместе с тем проведенные расчеты показывают, что с увеличением дозы УФ-облучения коэффициент сопротивляемости (K) церкарий *D. spathaceum* имеет тенденцию к уменьшению, при этом разница между конечными величинами настолько велика, что по ним невозможно найти средний показатель K .

Причины этого факта недостаточно ясны. По-видимому, процесс отмирания церкарий как многоклеточных организмов под влиянием УФ-лучей происходит по другим законам, нежели отмирание бактерий и других одноклеточных организмов, для которых была выведена формула расчета коэффициента сопротивляемости. Это затрудняет проведение расчетов экономической целесообразности применения УФ-излучения для профилактики диплостомоза.

Сравнение летальных доз и коэффициента сопротивляемости церкарий *D. spathaceum* и бактерий *Escherichia coli* ($K=2500$ мквт·сек./см²), *Aeromonas punctata* и *Pseudomonas fluorescens* ($K=1000-1200$ мквт·сек./см²) показывает, что церкарии *D. spathaceum* обладают высокой устойчивостью к УФ-радиации.

Учитывая, что на рыбоводных предприятиях используется неосветленная вода, как правило с высоким коэффициентом поглощения (α), а церкарии обладают высокой устойчивостью к УФ-облучению, затраты на профилактику диплостомоза будут очень велики. Так, стоимость электрической энергии, необходимой для обеззараживания 1 м³ воды с α , равным 0.5 см⁻¹, до степени обеззараживания 0.001 (т. е. наличие 1 живой церкарии на 1000 исходных) при найденном наибольшем K (750 000) составит 72 коп. (в установке с непогруженными лампами БУВ—60П). При подращивании 1 млн шт. мальков радужной форели в течение 60 дней требуется, согласно существующим нормам, около 29 000 м³ воды. Материальные затраты только на использованную электрическую энергию, необходимую для обеззараживания такого количества воды, составят около 20 тыс. рублей.

ВЫВОДЫ

1. Процесс отмирания церкарий *Diplostomum spathaceum*, Rud., 1819, под влиянием ультрафиолетовых лучей происходит по другим закономерностям, нежели отмирание бактерий и других одноклеточных организмов, что, по-видимому, связано с более высокой их организацией.

2. Сублетальная доза УФ-излучения, при которой облученные церкарии теряют способность к заражению рыб, составляет $\frac{2}{3}$ части летальной дозы для этих организмов.

3. Ультрафиолетовое излучение может быть рекомендовано для производственного испытания при профилактике диплостомоза молоди высокоценных пород рыб лишь на водоисточниках с низким коэффициентом поглощения воды.

Л и т е р а т у р а

- Астахова Т. В. 1965. Опыт борьбы с грибковым заболеванием икры осетровых. Рыбное хоз., 3 : 20—21.
- Астахова Т. В. и Мартиню К. В. 1968. Меры борьбы с грибковым заболеванием икры осетровых на рыбоводных заводах. Вопр. ихтиол. VIII, 2 (49) : 332—341.

- В л а с е н к о М. И. 1967. Об использовании ультрафиолетового излучения в ихтиопатологии. В сб.: Всесоюзная конференция молодых специалистов по прудовому рыбоводству (тезисы докладов) 22—24 марта 1967. М. : 1—7.
- К о х а н с к а я Е. М. 1967. Инкубирование икры костистых рыб в прикрепленном состоянии. Рыбоводство и рыболовство, 1 : 15—16.
- С а д о в И. А. и К о х а н с к а я Е. М. 1961. Инкубирование икры осетровых рыб. Тр. инст. морфологии животных им. Северцова АН СССР, 37 : 20—23.
- С а д о в И. А. и К о х а н с к а я Е. М. 1963. Лоточный инкубатор для икры осетровых рыб. Рыб. хоз., 6 : 23—27.
- С о к о л о в В. Ф. 1964. Обеззараживание воды бактерицидными лучами. М. : 110—117 и 134—143.

RESISTANCE OF CERCARIA OF DIPLOSTOMUM SPATHACEUM
TO ULTRA-VIOLET IRRADIATION

M. I. Vlassenko

S U M M A R Y

The paper contains results of laboratory experiments on the resistance of cercaria of *Diplostomum spathaceum* to ultra-violet irradiation. Lethal and sublethal doses were established. Expenses were calculated for irradiation of young trouts during the disinfection of water by ultra-violet rays. The ultraviolet irradiation treatment was recommended as a protective measure against diplostomosis in younglings of valuable species of fishes.